



TITLE:

Papain 酵素に関する研究(第1-2報)

AUTHOR(S):

吉岡, 政七

CITATION:

吉岡, 政七. Papain 酵素に関する研究(第1-2報). 京都大学化研講演集 1949, 17: 59-62

ISSUE DATE:

1949-03-05

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/73894>

RIGHT:

第5表 試料: ソーダ石灰 フラスコ: クロメル・アルメル対
 接合點 a=3.0cm 容器: シリマナイト 燃焼ボート

経過時間 (分)		30	30	30	30	30	30
外極温度 (°C)	630	770	870	940	935	645	590
内極温度 (°C)	590	650	810	825	920	655	505
電位差 (mV)	20	145	560	230	130	10	-20
備考	初感		極大		off		不感

することを確かめた。

すなわち実験 1—4 に於いて、ガラス粉末を最初に加熱する場合に表れる電位差の極大(200~1000 mV)は、実験 5 の場合と同様低温側の極附近でガラスが單に機械的に接觸した粉末の状態から、原子的なつながりを持った液體の状態に変化するときを表われるものと考えられる。このような現象の本質及び應用の研究を今後引續き行う。

Papain 酵素に関する研究 (第1—2報)

吉 岡 政 七

Papain が蛋白質を分解する植物酵素として *Caricapapaya* に存在するものであることは、周知の事實である。そして Papain が HCN に依り賦活されることは、1902年 Vines により始めて認められ、後 Wielstätter, Grasmann (1924年) 等は Papain と HCN とについて、可逆的結合説を提唱した。次いで Bersin 及び Logemann¹⁾ は Glutation 等による賦活作用を認め、それが -S-S- の酸化型を還元する作用に共通するものであると稱した。即ち、活性の變化は、Papain 分子中に於ける SH 基と -S-S- 基の變化によるものであると思考されておる。

しかしながら、その後、高純度の Papain に就て HCN を以て賦活した Papain 中に SH 基の存在を検したところ、ニトロプルシット反應は陰性であつた。次いで Ball²⁾ 等の得た結晶性 Papain の活性化に對する態度を検し、酸化を防止して得られた結晶 Papain は賦活剤の添加がなくとも活性を現し、又結晶分離に際して酸化を受けたものの活性は賦活剤の存在下に於てのみ現れ、更に酸化の高いものは最早 HCN 等の賦活剤を使用しても活性化されないことを説いておる。又奥村³⁾ は活性基として SH 基を否定し、他に作用基があることを述べて居る。そして更に氏は Papain の Gelatine 分解に於て分解産物を反應溶液中に溶存させる時は分解速度が極めて低下すると云つておる。この時に HCN の存在に依り、この分解の阻害作用

が防止される事實から、HCN の賦活作用は分解産物中の NH_2 基と Aldehyd 基の如きものとの結合によつて不活性化されたものを再分解して、活性酵素を生成するものであると述べておる。

又 Ganapathy⁴⁾ 等は Gelatine 及び Pepton 分解に際して H_2O_2 により處理した Papain を使用すると Gelatine を分解するが、Pepton を分解しない事實から、SH 基は Pepton 分解には必要であるが、Gelatine 分解には必要でない。更に沃化醋酸を以て處理した Papain は Gelatine, Pepton 兩者とも分解し得ない事實から、沃化醋酸は SH 基以外の活性に關係ある化學基を變化するものとして Papain の活性に關係ある化學基は SH 基以外の作用基のあることを推定したのである。従つて Papain の活性に關係する化學基は SH 基と見做すべきか或は奥村氏の如く Aldehyd 基に求めるべきか興味ある問題である。

著者は Papain の Gelatine 分解能が Aldehyl 基を有し、且つ硫黄を含有する Rongalit (Natriumformaldehyd-sulfoxylat) その他の之に類似した一連の化合物によつて著しく發現する事實を認めたのでここに報告する。

實 験 の 部

1) 酵素液: Papain は市販の Merek 品 (1; 20), Roda 産 (直接 Roda 島より取寄せたもので微に黄色を帶た小塊、使用に際して粉末とする)、又サイパン種の乳汁は和歌山縣白濱に於て栽培されておる生果にメスを以て縦に切傷をつけ、流出す乳汁を酵素液とした。

消化時の基質溶液 20cc に對して Papain 0.2g を使用した (乳汁は乾燥物 0.2g に相當する量を用いた)。

2) 基質; Gelatine 0.2g を 10cc の水を以て溶解し、Citratpuffer 溶液を加へて pH を調節し、消化時に全量を 20cc とする。即ち 1% 基質溶液を調製した。

3) 賦活; 賦活劑としては HCN , $\text{Ca}(\text{SH})_2$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, $\text{C}_3\text{H}_7\text{SO}_2$ (Cystein), $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (Askorbin 酸), $\text{CH}_2\text{O} \cdot \text{HSO}_2\text{Na}$ (Rongalit), $\text{CH}_2\text{OHSO}_3\text{Na}$ (Formaldehydbisulfit) を pH 5.0 に調節した Citratpuffer 溶液 10cc 中に前記賦活劑を 1.0, 0.5, 0.1, 0.05% の割合に含有する溶液を作り、次に前記酵素 0.2g を加え時々振盪混和して 30 分間賦活を行つた。賦活後基質溶液を加えて全量を 20cc とする。

4) 分解試験; 消化基質溶液 20cc に對して酵素 0.2g を加え、且つ賦活試験に於ては前記賦活劑を以て Papain に賦活を行つて後、各基質溶液全量を 20cc としたものに Toluol を重層し 40°C 孵卵器中にて消化した。

消化後 24 時間、72 時間、120 時間後の各消化液 4cc に就いて Formoltitration に依り酸値測定を行つた。對照試験として、基質を含まない酵素 + 調節液を本試験と同一條件下にて消化した。試験直後値及び酵素液のみの測定値を對照値として引去つた $\frac{N}{10}$ -NaOH の増加酸値 cc 数を分解値として表中に記載した。

實 験 成 績

第1表 Papain 酵素の Gelatine 分解(無處理)
消化液 4cc に対する N/10 NaOH 消費 cc 數

酵 素 の 種 類	PH 消化時間	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0
Merck (1:20)	24	0	0.02	0.02	0.02	0.02
	72	0	0.03	0.05	0.04	0.02
	120	0	0.03	0.05	0.04	0.02
Roda 産	24	0	0.05	0.05	0.03	0.03
	72	0	0.05	0.08	0.05	0.03
	120	0	0.08	0.08	0.05	0.03
内地産 (サンイ種バ) の乳汁	結實後1ヶ月	24		0.30		
		72	-	0.47	-	-
		120		0.57		
	結實後2ヶ月	24		0.38		
		72	-	0.60	-	-
		96		0.65		
	結實後3ヶ月	24		0.33		
		72	-	0.63	-	-
		96		0.73		
	結實後4ヶ月	24		0.49		
		72	-	0.49	-	-
		96		0.40		

第2表 Papain の賦活剤添加に依る Gelatine 分解
消化液 4cc に対する N/10 NaOH 消費 cc 數 (PH. 5.0)

賦 活 剤	濃度(%) 消化時間	1.0	0.5	0.1	0.05
HCN	24	0.45	0.35	0.27	0.23
C ₃ H ₇ SO ₂ (Cystein)	24	0.42	0.28	0.10	0.10
	72	0.44	0.32	0.16	0.10
	120	0.45	0.33	0.16	0.12
C ₆ H ₈ O ₆ (Ascorbin 酸)	24	0.02	0.03	0.03	0.04
	72	0.10	0.10	0.07	0.05
	120	0.10	0.13	0.12	0.05
Ca(SH) ₂	24	0.26	0.15	0.12	0.07
	72	0.28	0.21	0.21	0.08
	120	0.30	0.23	0.21	0.08
FeSO ₄	24	0.17	0.14	0.04	0
	72	0.19	0.14	0.05	0.07
	120	0.19	0.14	0.08	0.07
Fe ₂ (SO ₄) ₃	24	0	0	0	0
	72	0	0.03	0.03	0
	120	0.17	0.16	0.04	0.02
Na ₂ S ₂ O ₃	24	0.11	0.10	0	0.01
	72	0.17	0.16	0.11	0.10
	120	0.20	0.16	0.11	0.10
Na ₂ S ₂ O ₄	24	0.40	0.32	0.30	0.23
	72	0.40	0.32	0.30	0.29
	120	0.53	0.42	0.30	0.31
CH ₂ O. HSO ₂ Na (Rongalit)	24	0.75	0.45	0.39	0.25
	72	0.77	0.45	0.45	0.29
	120	0.77	0.50	0.47	0.32
CH ₂ O. HSO ₃ Na	24	0.32	0.20	0.18	0.12
	72	0.33	0.26	0.22	0.15
	120	0.39	0.30	0.22	0.15

第3表 Papain の Rongalit 賦活に依る Gelatine 分解 (PH5.0)
消化液 4cc に對する N/10 NaOH 消費 cc 數

消 化 時 間	1% Rongalit 賦活の Papain 乳汁	
	結 實 後 3 ケ 月	結 實 後 4 ケ 月
24	0.88	0.97
72	1.40	—
96	1.40	0.97

實 驗 成 績

第1表に觀る如くに Merck 品, Roda 産の Papain は Gelatine 分解は甚だ微弱である。しかるに白濱に於て栽培されたサイパン種の Papain は採取直後のもので、其分解値は大である。著者は幸ひ結實後4ヶ月に渡るものに就いて試験する事が出来た。其の試験値は著しい差異は認められないが、結實後2ヶ月乃至は3ヶ月のものに高分解値を示した。且つ乳汁分泌も旺盛であつた。

次に各種賦活剤による試験成績(第2表)であるが、著者は90余种の化合物に就いて行つた。その内の10種に就て Papain (Roda 産) の Gelatine 分解値を摘出したのである。從來の賦活剤としてよく知られた HCN を初め Cystein 等を對照として試験した。

その結果は Rongalit (CH_2O , HISO_2Na) を以て賦活剤する時は Gelatine の分解は著明に發現されることを觀察したのである。

HCN, Cystein 賦活時のものと比較すると、1%濃度に於て消化24時間後の分解値を見るに HCN, Cystein 賦活の 0.45, 0.42cc に對し Rongalit 賦活は 0.75cc を示し、又 0.5%濃度に於ても 0.35cc, 0.28cc に對し、Rongalit 賦活は 0.45cc の分解値を示したのである。賦活濃度 0.05%に於ても 0.25cc の數値を認めた。

次に Rongalit 類似化合物の CH_2O , HISO_3Na 賦活の場合も Cystein 程度の分解作用を現わした。又新に見出した強賦活剤 Rongalit は生果より得た、少しも酸化を受けない乳汁の形の Papain に作用すると第3表の如く、更に約2倍の Gelatine 分解値を認める事が出来た。故に奥田氏の提唱する作用化基が Aldehyd 基に基因するものであらうことが想像される。

Rongalit は HCN に比して無毒にして安全なる強賦活剤である。

(本報告の一部は昭和19年化學研究所講演會に於て發表)

拙筆に臨んで本研究に關し理學部白濱研究所に於て多大の御援助を賜つた 駒井卓教授に深甚の謝意を表し、且つ實驗材料の提供を賜つた白濱番所山植物園榎本林作氏に感謝する。

引 用 書 目

- 1) Bersin, Logemann; Z. physiol. chem., **220**, 209 (1933).
- 2) Balls, Liveweaver, Thonysson; Science, **86**, 379 (1937).
- 3) Okumura; Bull. Chem. Soc. Japan, **14**, 161 (1939).
- 4) Ganaphathy, Sastri; Biochem J., **33**, 1175 (1939).
- 5) 荻生, 吉岡, 特許 172230.